

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

POREMEĆAJI U RAZVOJU ŽIVOTINJA IZAZVANI KEMIJSKIM
SPOJEVIMA SLIČNIM HORMONIMA

DISORDERS IN ANIMAL DEVELOPMENT CAUSED BY
ENDOCRINE DISRUPTIVE CHEMICALS

SEMINARSKI RAD

Lucia Nani

Preddiplomski studij molekularne biologije

Mentor : prof.dr.sc. Gordana Lacković -Venturin

Zagreb 2010.

Sadržaj

1. Uvod.....	2
2. Okolišni modulatori signalnih molekula (endocrine disruptors)	3
3. Mehanizmi djelovanja okolišnih modulatora signalnih molekula na funkciju hormona....	5
4. Pregled najbitnijih okolišnih modulatora signalnih molekula	7
4.1 DDT (diklorodifeniltrikloroetan).....	7
4.2 Bisfenol A (BPA)	8
4.3 Nonilfenol	10
4.4 Genistein	11
4.5 DES (dietilstilbesterol)	12
5. Zaključak.....	16
6. Literatura.....	17
7. Sažetak	18
8. Summary	19

1. Uvod

Mnogostruke aktivnosti stanica, tkiva i organa u organizmu usklađene su međusobnim djelovanjem različitih vrsta sustava kemijskih glasnika. Jedna od tih vrsta kemijskih glasnika su endokrini hormoni koje žlijezde ili specijalizirane stanice otpuštaju u krv, a utječu na stanice na funkciju na nekom drugom mjestu u organizmu (Guyton i Hall 2006). U zadnjem desetljeću, brojni dokazi dobiveni istraživanjima na divljim životinjama, laboratorijskim životinjama, epidemiološkim i in vitro istraživanjima, pokazuju da mnogi okolišni i hranidbeni spojevi mogu utjecati na kompleksne endokrine signalne mehanizme i uzrokovati štetne posljedice. Prvobitna zabrinutost bila je usredotočena na izloženost spojevima nalik estrogenima i njihov utjecaj na oboljenja i disfunkciju reproduktivnog sustava, međutim, postalo je jasno da spojevi nalik estrogenu nisu jedini spojevi koji narušavaju djelovanje endokrinog sustava i da reproduktivni sustav nije jedini pogođeni sustav. Zanimanje se proširilo na spojeve koji oponašaju ili interferiraju sa normalnom funkcijom svih endokrinih hormona uključujući i estrogene, androgene, progestine, hormone koje luči štitnjača, hipotalamus i hipofiza; ovi spojevi se nazivaju „endocrine disruptors“, odnosno okolišni modulatori signalnih molekula (Newbold i sur. 2007).

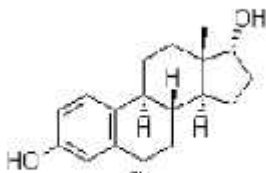
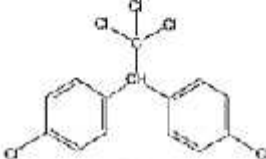
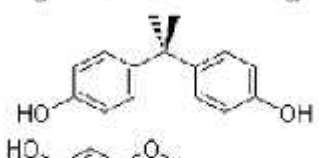
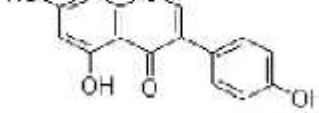
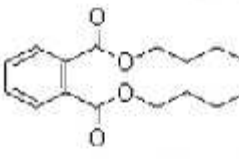
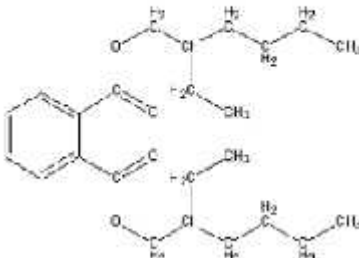
2. Okolišni modulatori signalnih molekula (endocrine disruptors)

Okolišne modulatore definirala je EPA (U.S. Environmental Protection Agency) kao egzogene agense koji interferiraju sa sintezom, sekrecijom, transportom, metabolizmom, vezanjem ili eliminacijom prirodnih hormona u krvi, koji su prisutni u organizmu i odgovorni za homeostazu, reprodukciju i razvojne procese. Sa fiziološke perspektive, okolišni modulatori signalnih molekula su prirodni ili sintetski dobiveni spojevi koji mijenjaju hormonski i homeostatski sustav djelovanjem putem okoliša ili neprikladnim izlaganjima tijekom razvoja što onemogućava organizmu da komunicira i reagira s okolišem.

Skupina molekula određena kao okolišni modulatori signalnih molekula je jako heterogena i uključuje sintetske spojeve koji se koriste kao industrijska otapala i njihovi nusprodukti [poliklorirani bifenilni spojevi (PCB), polibromirani bifenilni spojevi (PBB), dioksini], plastika [bisfenol A (BPA)], plastifikatori (ftalati), pesticidi [metoksiklor, diklordifeniltrikloroetan (DDT)], fungicidi (vinklozolin) i farmaceutski agensi [dietilstilbesterol (DES)]. Prirodni spojevi koje nalazimo u hrani (npr. fitoestrogeni, uključujući i genistein) mogu također djelovati kao okolišni modulatori signalnih molekula.

Neki okolišni modulatori signalnih molekula su oblikovani tako da imaju duga ko vrijeme poluraspada; to svojstvo je povoljno u industrijskoj upotrebi, ali se pokazalo da je vrlo štetno za životinjski svijet i ljude. Ti spojevi se ne raspadaju lako, neki se ne mogu razgraditi u organizmu, a ako se i razgrade ili raspadnu, nastaju spojevi još toksičniji od roditeljske molekule; čak i spojevi koji su zabranjeni prije više desetaka godina ostaju u okolišu u znatnim količinama, a mogu se naći i u organizmu svake testirane životinje ili osobe. Neki okolišni modulatori signalnih molekula mogu se naći na velikim udaljenostima od mjesta gdje su proizvedeni, korišteni ili otpušteni, djelovanjem vode, strujanja zraka i migratornim životinjama koje dio života provode u kontaminiranom području, a dio su hranidbenog lanca u drugom, nekontaminiranom području. Drugi spojevi, kao što je BPA, nisu toliko postojani, ali su jako rasprostranjeni u upotrebi pa prevladavaju u izloženosti ljudi tim spojevima (Diamanti-Kandarakis i sur. 2009).

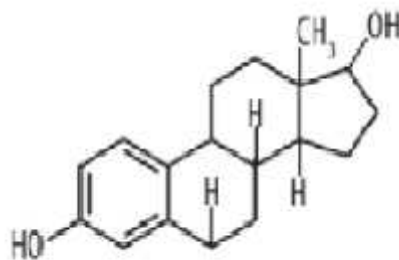
Tablica 1. Kemijske strukture i upotreba uobičajenih okolišnih modulatora signalnih molekula (preuzeto iz Patisaul i Adewale 2009).

Compound	Structure	Description
Estradiol		Endogenous Estrogen
DDT		Pesticide
BPA		Plastics Component
GEN		Phytoestrogen
DBP		Phthalate
DEHP		Phthalate

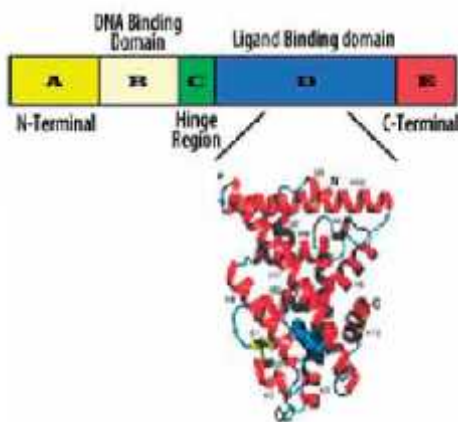
3. Mehanizmi djelovanja okolišnih modulatora signalnih molekula na funkciju hormona

Iako okolišni modulatori signalnih molekula mogu djelovati na bilo koji mogu i hormonski sustav, najviše informacija je poznato o interferenciji okolišnih modulatora signalnih molekula sa hormonskim receptorima koji pripadaju porodici jezgrinih hormonskih receptora. Jezgrini hormonski receptori predstavljaju porodicu strukturno srodnih transkripcijskih faktora. Kod sisavaca je poznato 48 jezgrinih hormonskih receptora koji sudjeluju u svim vitalnim funkcijama; fetalnom razvoju, homeostazi, reprodukciji, metabolizmu i odgovoru na ksenobiotičke supstance. Hormonski receptori ove porodice su receptori steroidnih hormona; receptori androgena, receptori progesterona, receptori glukokortikoida, receptori mineralokortikoida kao i receptori za hormone štitnjače.

Neki okolišni modulatori signalnih molekula se mogu vezati direktno na te receptore, kao agonisti ili kao antagonisti, čime pojačavaju, odnosno inhibiraju djelovanje hormona (Swedenborg i sur. 2009). Okolišni modulatori signalnih molekula (ksenoestrogeni) su sintetski spojevi koji su strukturno slični i djeluju kao endogeni estrogeni. Djeluju na dva načina; privremeno ili stalno mijenjaju petlje povratne sprege u mozgu, hipofizi, gonadama, štitnjači i drugim komponentama endokrinog sustava oponašanjem djelovanja estrogena i aktivacijom specifičnih receptora ili se vežu za hormonske receptore i sprječavaju djelovanje prirodnih hormona. Mogu i interferirati sa metabolizmom, sintezom, transportom i djelovanjem hormona koji se prirodno nalaze u organizmu. Strukturne sličnosti okolišnih modulatora signalnih molekula i endogenih estrogena dozvoljavaju vezanje za receptore estrogena (ER) i njihovu aktivaciju u nedostatku endogenih ili prirodnih estrogena. Ugljikovodici na struktura i halogeni elementi koje posjeduju su vjerojatno faktori koji omogućavaju vezanje za dva jezgrina receptora, ER α i ER β . Estrogen se veže za receptor estrogena (ER), dimerizira i uspostavlja interakciju s DNA čime modulira ekspresiju specifičnih ciljnih gena.



Slika 1. Struktura estrogena (preuzeto iz Roy i sur. 2009).



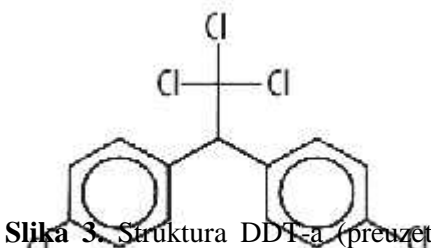
Slika 2. Struktura receptora estrogena (preuzeto iz Roy i sur. 2009).

Receptor estrogena se sastoji od tri regije; A/B domena, C domena i D/E domena. C domena je DNA vezna domena sa AF-1 kao dijelom aktivacijske jedinice. D/E domena ini ligand veznu domenu (LBD) sa AF-2 kao aktivacijskom jedinicom. Estrogen i spojevi nalik estrogenu, odnosno ve ina okolišnih modulatora signalnih molekula, se vežu na ligand veznu domenu i pokazuju razli ite na ine vezivanja. Novije studije pokazuju da ksenoestrogeni pokazuju sli ne afinitete vezanja za receptore estrogena u usporedbi s

prirodnim ili endogenim estrogenima i to uglavnom zahvaljuju i cikli koj strukturi koja je preferirana tijekom vezanja za estrogene receptore. Ne samo da se ksenoestrogeni vežu za estrogene receptore, ve mogu imati i ve i afinitet vezanja za receptor od endogenih estrogena (Roy i sur. 2009).

4. Pregled najbitnijih okolišnih modulatora signalnih molekula

4.1 DDT (diklorodifeniltrikloroetan)



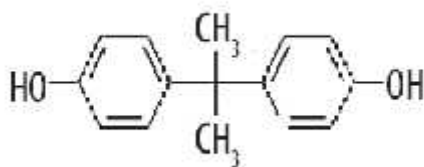
Slika 3. Struktura DDT-a (preuzeto iz Roy i sur. 2009)

DDT (diklorodifeniltrikloroetan) je nekad bio široko korišten kao pesticid u agrikulturi. Iako je u većini zemalja zabranjeno korištenje DDT-a u agrikulturi još 1970.-ih zbog njegovih opasnih utjecaja na okoliš, kemikalija se još koristi u ograničenim količinama u određenim zemljama. Koristi se za borbu protiv malarije, bolesti koja ubije preko milijun ljudi godišnje, uglavnom u Africi (Roy i sur. 2009). DDT je prvi poznati okolišni modulator signalnih molekula. Do otkrića da kemijski spojevi mogu interferirati sa endokrinim sustavom ne ciljanih vrsta prvi su došli biolozi koji su zapazili brzo smanjenje populacija i abnormalnu reproduktivnu fiziologiju i ponašanje kod mnogih vrsta. Npr. još u ranim 1930.-tima je Charles Broley primjetio abnormalno ponašanje za vrijeme udvaranja, smanjeno gnježenje i smanjenu stopu poroda kod brojnih ptica i vrsta diljem SAD-a i Kanade, posebice kod bjeloglavih orlova. Njegova opažanja ponašanja dovela su ga do zaključka da velika konzumacija ribe koja je bila u doticaju sa široko rasprostranjenim pesticidom DDT-om sterilizira ptice. Ta tvrdnja je pokrenula istraživanje znanstvenika. Konačno je utvrđeno da DDT i njegovi metaboliti, iako ne uzrokuju sterilnost ptica (broj spermija u ptica je bio normalan), feminiziraju muške embrije, slabe ljusku jaja i remete reproduktivno ponašanje do te mjere da dolazi do desetkovanja ptica i njihovih populacija. Jedan od najistaknutijih primjera u divljini su zabilježili znanstvenici sa Floride koji su otkrili brojne genitalne malformacije, slabo izlijevanje iz jaja i puno veći broj ženki mekušaca u aligatorima koji žive u zagađenom jezeru u središnjoj Floridi. Jezero je postalo jako kontaminirano DDT-om, njegovim metabolitima i drugim pesticidima što je posljedica industrijskog onečišćenja. Kod gmazova temperatura inkubacije za vrijeme kritičnog perioda razvoja utječe na to koje gonade se formiraju i određuje spol životinje. Otkriveno je da izloženost estrogenu ili okolišnim modulatorima nalik estrogenu može nadvladati utjecaj temperature ili djelovati zajedno sa tim utjecajem što rezultira nastankom interseksualnih organizama, mužjaka s abnormalno niskom razinom testosterona,

genitalnim abnormalnostima i malformacijama gonada (kod oba spola). Eksperimentalno izaganje jaja kornja a i aligatora metabolitu DDT-a koji se naziva DDE ili estradiolu izaziva sli ne efekte što dokazuje da je endokrini poreme aj spolne determinacije i diferencijacije muškog spolnog sustava mogu . Reproduktivne abnormalnosti gmazova koji žive u tom jezeru se javljaju i danas, tri desetlje a nakon prvotnog one iš enja, pokazuju i da defekti mogu utjecati na brojne generacije, osobito kad su tvari izrazito lipofilne i imaju dugo vrijeme poluraspada (Patisaul i Adewale, 2009).

4.2

Bisfenol A (BPA)

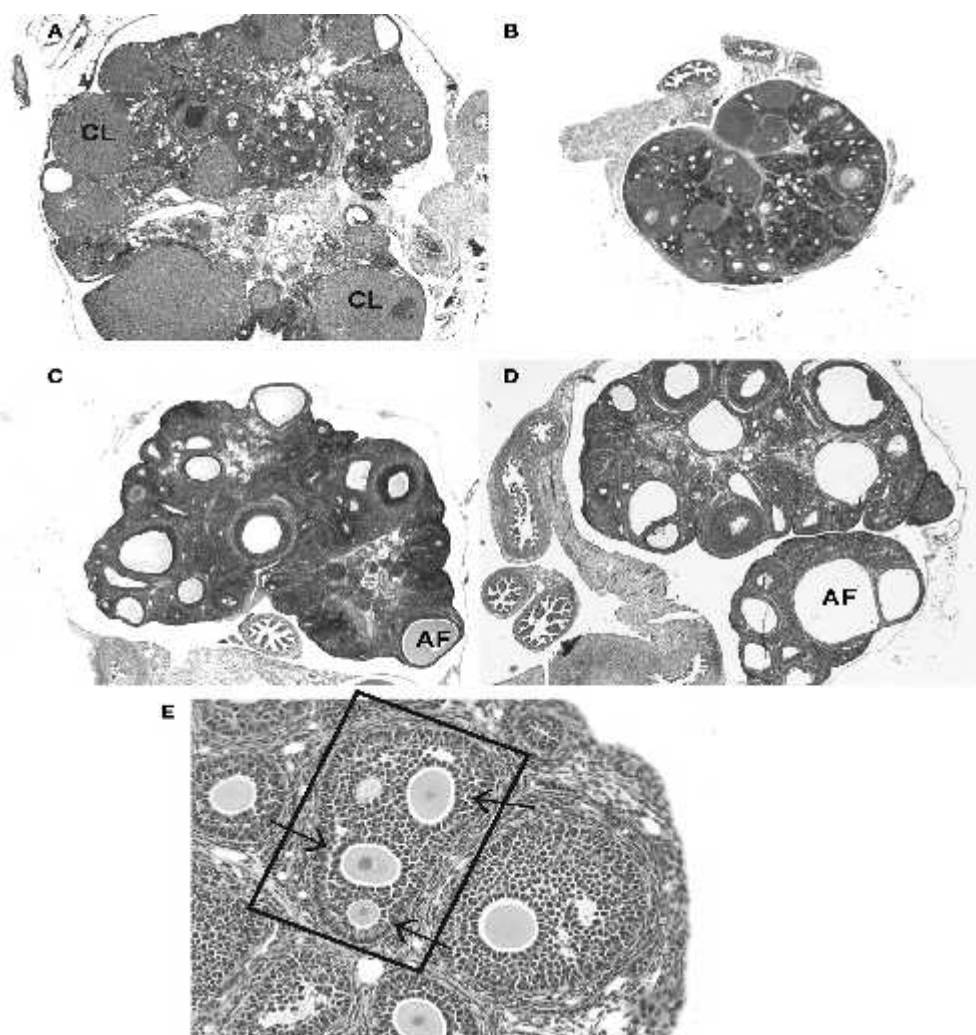


Slika 4. Struktura BPA (preuzeto iz Roy i sur. 2009)

Bisfenol A je po etkom 20. stolje a razvijen kao mogu i sintetski estrogen (potraga koja je završila sintezom DES-a). Od 1950.-ih se BPA primarno koristi u proizvodnji polikarbonatne plastike za poboljšanje njezine isto e i otpornosti. Komponenta je i materijala koji se koristi za oblaganje metalnih limenki (Patisaul i Adewale, 2009). Toplina i kiseli ili bazi ni uvjeti ubrzavaju hidrolizu esterske veze koja spaja BPA monomere

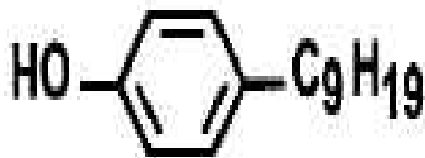
što dovodi do otpuštanja BPA i potencijalne izloženosti ljudi i okoliša (Richter i sur. 2007). Iako se nekad smatralo da bi BPA mogao djelovati kao sintetski estrogen, BPA nije smatran zna ajnom prijetnjom ni životinjskom svijetu ni ljudima zbog svog veznog afiniteta za receptore estrogena koji je oko 10 000 puta slabiji od afiniteta vezanja estradiola ili DES-a. Ipak, brojna istraživanja su pokazala da BPA može utjecati na reproduktivnu fiziologiju i ponašanje glodavaca pri dozama manjim od doza koje se trenutno smatraju „sigurnim“ limitom za ljude koji iznosi 50 µg/kg tjelesne težine dnevno. Unato nesuglasicama oko mehanizma kojim niske doze BPA djeluju na reproduktivnu fiziologiju, broj dokaza o široko rasprostranjenom djelovanju na animalne modele raste. U inci perinatalne izloženosti promatrani pri dozama od 50 µg/kg tjelesne težine i manjim uklju uju ranije vaginalno otvaranje i uranjen po etak prvog estrusa što ukazuje na preuranjeni pubertet. Malformacije jajnika uklju uju pove an broj krvlju napunjenih ovarijskih burza što ukazuje na preuranjeno reproduktivno starenje, abnormalan broj antralnih (sekundarnih) folikula, aneuploidija i smanjenje žutih tijela su tako er uo eni. BPA može uzrokovati apoptozu ili zaustaviti stani ni

ciklus u kulturi granuloznih stanica jajnika. Dugotrajni, nepravilni estrusni ciklusi se esto uo avaju nakon izloženosti perinatalnim niskim dozama BPA što upu uje na smanjenje plodnosti. Razvoj žlijezdi za dojenje je posebno osjetljiv na BPA u brojnim razdobljima života uklju uju i embrionalni razvoj, perinatalni period, razdoblje spolnog sazrijevanja i odraslo doba; u inci koji mogu biti posredovani ER -ovisnim mehanizmom (Patisaul i Adewale, 2009).



Slika 5. esto opažene malformacije jajnika kod štakora, posljedica neonatalne izloženosti kemijskim spojevima nalik estrogenima. (A) Jajnik neeksponirane odrasle ženke sadrži folikule u svim stadijima folikulogeneze i brojna žuta tijela (CL) što ukazuje na uspješnu ovulaciju. (B) Janici ženke izložene sintetskom estrogenu estradiol benzoatu za vrijeme neonatalnog razvoja ne pokazuju folikulogenezu, manji su nego što je uobi ajeno i nemaju žuta tijela (CL). Prisutnost brojnih, velikih folikula nalik sekundarnima (AF) od kojih ve ina sadrži degenerirane oocyte ili ih uop e nema i esto podsje aju na ciste op enito je posljedica neonatalne izloženosti BPA (C) ili genisteinu (D). Žutih tijela (CL) esto nema ili im je zna ajno smanjen broj kad su prisutni brojni folikuli nalik sekundarnima. Multioocitni folikul (E) u predpubertetnom jajniku kao posljedica neonatalne izloženosti estradiol benzoatu (preuzeto iz Patisaul i Adewale 2009).

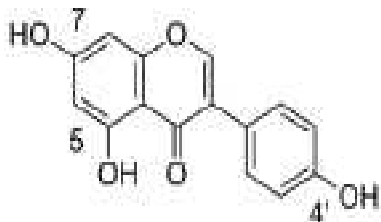
4.3 Nonilfenol



Slika 6. Struktura p-nonilfenola (preuzeto iz Laws i sur. 1999)

Postoji povećana zabrinutost o dugotrajnim fenolnim spojevima, kao što je nonilfenol, zbog njihovih svojstava nalik estrogenima. Takvi spojevi su teško biorazgradivi ali se lako akumuliraju zbog čega su ozbiljna prijetnja vodenim životinjama i drugim organizmima. Provedeno je istraživanje djelovanja nonilfenola na spolnu diferencijaciju, omjer mužjaka i ženki i kvalitetu riblje mlije i smuđa (*Sander lucioperca* L.). Embrionalna gonada riba je bipotencijalna i može se razviti u ovarij ili u testis. Kod riba, spol je osim genetski određen i okolišem. Zbog toga izloženost egzogenim spolnim hormonima ili spojevima koji oponašaju ili blokiraju endogene hormone tijekom perioda razvoja može poremetiti spolnu diferencijaciju riba. Istraživanja pokazuju da nonilfenol remeti spolnu diferencijaciju mladih smuđa, a ne djeluje na preživljavanje i stopu razvoja. Morfološke i histološke studije pokazuju da djelovanjem nonilfenola nastaju interseksualne ribe. Interseksualne gonade imaju morfološke značajke testisa i ovarija, a sadrže i muške i ženske zametne stanice. Otkriveno je da nonilfenol inducira formiranje testis-ovarij kod riba kad su izložene njegovom djelovanju za vrijeme spolne diferencijacije. Porast doze nonilfenola i produljenje vremena izloženosti smanjuje postotak mužjaka i povećava postotak interseksualnih riba. Provedena su i neka istraživanja za procjenu potencijalnog rizika djelovanja nonilfenola na reproduktivni sustav odraslih riba. Poremećaj reprodukcije riba uzrokovan nonilfenolom uključuje utjecaj na morfologiju testisa, stopu spermatogeneze i reproduktivno ponašanje. Nonilfenol može inducirati i proizvodnju vitelogenina kod mužjaka. Djelovanje nonilfenola smanjuje kvalitetu mlije i uspješnost izlijevanja ribe. Negativno djelovanje nonilfenola na kvalitetu riblje mlije je primijećeno u svim promatranim skupinama i karakterizira ga smanjenje koncentracije spermatozoa i povećan stupanj fragmentacije DNA (Popek i sur. 2006).

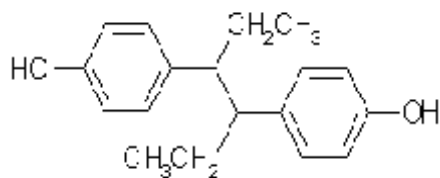
4.4 Genistein



Slika 7. Struktura genisteina (preuzeto iz Rusin i sur. 2010)

Genistein je jedan od najproučavanijih izoflavonoida, općenito spada u fitoestrogene. Može imati estrogeno kao i anti-estrogeno djelovanje što je ponekad povezano sa reproduktivnim problemima kod životinja. Genistein je osnovni izoflavonoid u soji (Rusin i sur. 2010). Neonatalna izloženost genisteinu uzrokuje preuranjeni pubertet, povećava duljinu estrusnog (menstrualnog) ciklusa i uzrokuje raniji počinjak stalnog estrusa kod glodavaca. Ženke miševa tretirane sa 0.5-50 mg/kg genisteina samo za vrijeme prvih 5 dana života imaju manje živih mladih u usporedbi sa netretiranim kontrolnim životinjama; najveći i utjecaj na fertilitet imaju najviše doze. Ovo ubrzanje reproduktivnog starenja može biti posljedica poremećaja bilo gdje unutar HPG osi (hipotalamus-hipofiza-gonade) uključujući i jajnike i mozak. Utvrđeno je da genistein može interferirati sa diferencijacijom ovarija što dovodi do malformacija ovarija koje uzrokuju smanjenu plodnost; folikuli sa više oocita i smanjena stanična smrt oocita. Oštećenja ovarija, uključujući i nedostatak žutog tijela, prisutnost velikih folikula nalik sekundarnima sa degeneriranim ili bez oocita i brojne ciste jajnika su također zapažene kod štakora koji su za vrijeme neonatalnog razvoja bili izloženi genisteinu. Genistein je i potencijalni inhibitor tirozin kinaze koja katalizira autofosforilaciju i fosforilaciju tirozinskih ostataka drugih proteina, uključujući i faktore rasta bitne u proliferaciji tumorskih stanica. Genistein može i inhibirati DNA topoizomerase I i II, enzime esencijalne u replikaciji DNA (Patisaul i Adewale 2009).

4.5 DES (dietilstilbesterol)



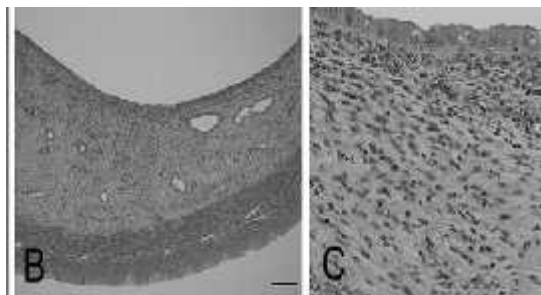
Slika 8. Struktura DES-a (preuzeto sa http://www.chemistrydaily.com/chemistry/Image:DES_structure.png)

DES (dietilstilbesterol), sintetski spoj koji ima estrogeno djelovanje, je od 1940.-ih do 1970.-ih propisivan kao lijek za prevenciju pobačaja kod visokorizičnih trudnica (Newbold i sur. 2007). 1971. godine je jedno kliničko izvješće povežalo utjecaj DES-a sa rijetkim oblikom tumora nazvanim vaginalni adenokarcinom, a koji je otkriven u malom broju (<0.1%) žena koje su uzimale lijek za

vrijeme trudnoće. DES je povezan i sa mnogo većim benignim tvorbama u reproduktivnom sustavu kod 95% DES-u izloženih žena; disfunkcije reproduktivnih organa, abnormalne trudnoće, smanjena plodnost i poremećaji imunološkog sustava su zabilježeni. DES-u izloženo muško potomstvo pokazuje strukturne, funkcionalne i stanične abnormalnosti nakon prenatalne izloženosti, uključujući i hipospadiju, mikrofalus, testise koji se ne spuštaju potpuno u skrotum, upale i smanjenu plodnost. Brojna istraživanja su pokazala da izloženost DES-u za vrijeme razvoja ometa normalnu diferencijaciju Müllerovih kanala i izaziva regresiju Wolffovih kanala. DES prolazi kroz placentu i direktno djeluje na fetus u razvoju. Miševi koji su za vrijeme prenatalnog razvoja podvrgnuti djelovanju DES-a pokazuju abnormalnosti kakve su zapažene i kod ljudi. Istraživanja su provedena i za adenokarcinom maternice koji omogućuje proučavanje oštećenja koje se već javlja. Spoznajom da se diferencijacija reproduktivnog sustava nastavlja i za vrijeme neonatalnog razvoja i kod ljudi i kod miševa, provedeno je istraživanje u kojem su miševi izloženi djelovanju DES-a za vrijeme neonatalnog razvoja pri čemu je zapažen visok postotak tumora maternice (90-95%) kad su miševi bili stari 18-24 mjeseci. Istraživanja provedena na drugim životinjama tretiranim za vrijeme neonatalnog razvoja, uključujući i štakore i hrčke, su također pokazala visoku stopu tumora maternice. Tumori maternice nisu zabilježeni kod kontrolnih netretiranih životinja u istoj dobi ili nakon sličnog kratkotrajnog izlaganja estrogenima u odrasloj dobi (Newbold i sur. 2006).

Provedeno je istraživanje koje je ispitalo djelovanje DES-a na trudnoću štakora. Smatra se da je prekid trudnoće kod štakora tretiranih DES-om od samog početka trudnoće posljedica

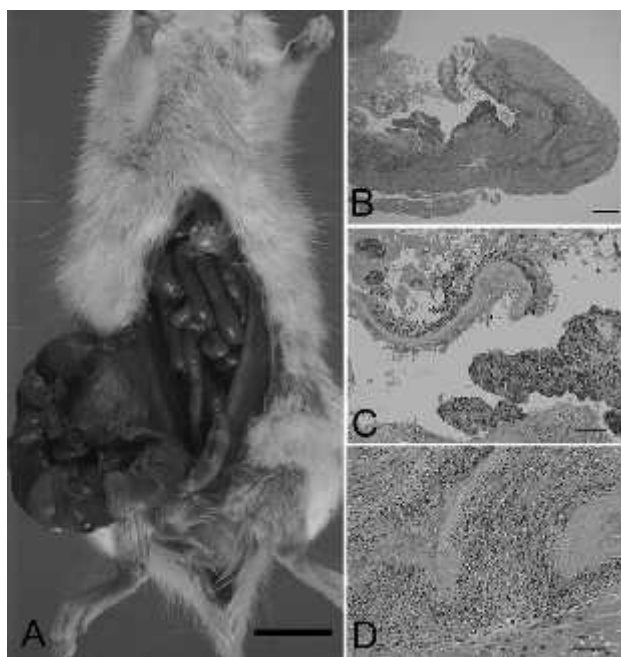
neuspjele implantacije ili ranog abortusa jer nije došlo do porasta tjelesne težine niti su zapaženi ostaci posteljice; oralna primjena DES-a u ranoj fazi trudno e sprje ava trudno u.



Slika 9. Maternica štakora tretiranog DES-om tijekom cijele trudno e. Tanka stijenka maternice (B) i infiltracija neutrofila u endometriju (C) (preuzeto iz Kawaguchi i sur. 2009).

Prekid trudno e kod štakora tretiranih DES-om od 13. dana trudno e se smatra posljedicom abortusa i neuspjelim porodom jer su zapaženi mrtvi fetusi i ostaci posteljice; oralna primjena DES-a u kasnoj fazi trudno e inducira abortus. Smanjenje tjelesne težine i smanjenje mase jajnika kod

štakora tretiranih DES-om tijekom cijele trudno e i kod onih tretiranih od 13. dana je pridonijelo prekidu trudno e; masa jajnika raste s razvojem trudno e. Ovo istraživanje je pokazalo da jako estrogeno djelovanje DES-a utje e na trudno u i da ovisno o periodu izloženosti i dozi može izazvati sterilnost, abortus, slab razvoj fetusa ili smanjenje broja mladih (Kawaguchi i sur. 2009).

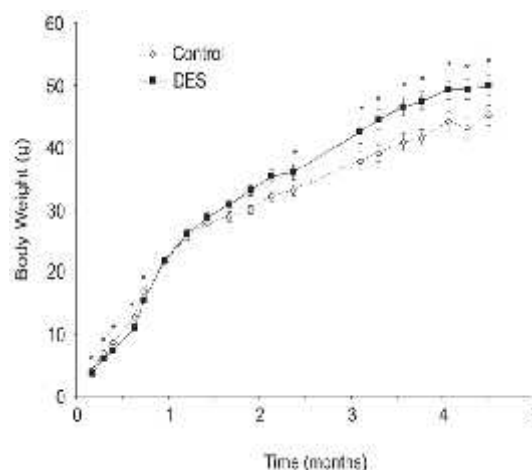


Slika 10. Neuspjela trudno a štakora tretiranog DES-om od 13. dana trudno e. Jaka infiltracija neutrofila u endometriju (A), nekroza endometrija (B-D) (preuzeto iz Kawaguchi i sur. 2009).

DES jasno pokazuje da izloženost kemijskim spojevima, uz dodatak prehrane i drugih perinatalnih faktora, može značajno utjecati na razvoj organizma i uzrokovati dugotrajne posljedice u odrasloj dobi. Postavljena je hipoteza da izloženost okolišnim kemijskim spojevima nalik hormonima za vrijeme intrauterinog i neonatalnog razvoja može igrati ulogu u razvoju pretilosti u kasnijoj dobi. Sve je veći i broj istraživanja koja pokazuju da izloženost kemijskim spojevima nalik hormonima tijekom kritičnog perioda diferencijacije, pri niskim okolišnim dozama, utječe na razvoj i rezultira pretilošću. Provedeno je istraživanje u kojem su miševi tretirani DES-om subkutano od 9. do 16. dana gestacije (glavni period organogeneze kod miševa) ili od 1. do 5. dana neonatalnog razvoja (period stanične diferencijacije reproduktivnog trakta i kritičan period diferencijacije imunosti, ponašanja i adipocita). Prenatalne doze DES-a su izazvale smanjenje tjelesne mase potomstva pri rođenju i kasnije kroz život; neonatalne doze DES-a nisu utjecale na tjelesnu težinu tijekom postupka, ali su povezane sa značajnim porastom tjelesne težine u odrasloj dobi. Za razliku od niskih doza, visoke doze DES-a su izazvale značajno smanjenje tjelesne težine miševa za vrijeme postupka, u pubertetu je nastupilo dostizanje tjelesne težine kontrolnih životinja, a nakon 2 mjeseca je došlo do značajnog povećanja tjelesne težine DES-om tretiranih miševa u odnosu na kontrolne životinje. Istraživanje je pokazalo da je povećanje tjelesne težine miševa izloženih DES-u povezano i sa povećanjem postotka masnog tkiva. Ti podaci pokazuju da DES može pridonijeti razvoju pretilosti i bolesti izazvanih njome kao što su dijabetes tipa 2 i kardiovaskularne bolesti (Newbold i sur. 2007).



Slika 11. Kontrolni miš s lijeve strane i miš tretiran DES-om s desne strane, u dobi od 6 mjeseci, slika dobivena Piximus densitometrijom (preuzeto iz Newbold i sur. 2007).



Slika 12. Tjelesne težine miševa izloženih DES-u za vrijeme neonatalnog razvoja (preuzeto iz Newbold i sur. 2007).

5. Zaključak

Dobro je poznato da hormoni bitno utječu na razvoj mozga kralješnjaka što dovodi do oblikovanja ponašanja i specifične reproduktivne fiziologije. Najbitniji trenutci u razvoju odvijaju se za vrijeme prenatalnog perioda, iako postaje jasno da se neki od tih procesa nastavljaju kroz pubertet. Stoga se smatra da je izloženost okolišnim modulatorima signalnih molekula u odrasloj dobi bitna, ali je primarna zabrinutost vezana za fetus i novorođenčad jer su organizmi u razvoju izuzetno osjetljivi na izloženost spojevima nalik hormonima. Zabrinjavajuća je činjenica da utjecaj spojeva nalik hormonima na organizam za vrijeme embrionalnog/fetalnog/neonatalnog razvoja može uzrokovati brojne štetne posljedice, koje uključuju tumore endokrinog sustava, različita oštećenja reproduktivnog sustava i pojavu pretilosti, tek u odrasloj dobi. Istraživanja na eksperimentalnim životinjama pokazuju i da se utjecaj spojeva nalik hormonima može prenijeti na sljedeće generacije. Zbog svega do sada zapaženog, bitno je prepoznavanje uestalosti spojeva nalik hormonima u okolišu i njihovog potencijalno štetnog djelovanja na životinjski svijet i na ljude ne samo od strane znanstvenika, već i od strane mjerodavnih državnih tijela i ljudi općenito.

6. Literatura

- Evanthia Diamanti-Kandarakis, Jean-Pierre Bourguignon, Linda C. Giudice, Russ Hauser, Gail S. Prins, Ana M. Soto, R. Thomas Zoeller, and Andrea C. Gore, 2009. Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement, *Endocr Rev.* 2009 June; 30(4): 293–342
- Guyton i Hall, 2006. Medicinska fiziologija, jedanaesto izdanje, *Medicinska naklada – Zagreb*
- Hiroaki Kawaguchi, Noriaki Miyoshi, Yoko Miyamoto, Masakazu Souda, Yoshihisa Umekita, Nobuhiro Yasuda, Hiroki Yoshida, 2009. Effects of Exposure Period and Dose of Diethylstilbestrol on Pregnancy in Rats, *J. Vet. Med. Sci.* 71(10): 1309–1315
- Susan C. Laws, Stephan A. Carey, Janet M. Ferrell, Gerald J. Bodman, and Ralph L. Cooper, 1999. Estrogenic Activity of Octylphenol, Nonylphenol, Bisphenol A and Methoxychlor in Rats, *Toxicological Sciences* 54, 154–167
- Retha R. Newbold, Elizabeth Padilla-Banks, Ryan J. Snyder, Terry M. Phillips, and Wendy N. Jefferson, 2007. Developmental Exposure to Endocrine Disruptors and the Obesity Epidemic, *Reprod Toxicol.* 2007 ; 23(3): 290–296
- Retha R. Newbold, Elizabeth Padilla-Banks and Wendy N. Jefferson, 2006. Adverse Effects of the Model Environmental Estrogen Diethylstilbestrol Are Transmitted to Subsequent Generations, *Endocrinology* 2006 147:s11-s17
- Heather B. Patisaul and Heather B. Adewale, 2009. Long-term effects of environmental endocrine disruptors on reproductive physiology and behavior, doi:10.3389/neuro.08.010.2009
- Włodzimierz Popek, Grzegorz Dietrich, Jan Glogowski, Krystyna Demska-Zak , Ewa Dr g-Kozak, Jan Sionkowski, Ewa Łuszczek-Trojan, Piotr Epler, Wiesław Demianowicz, Beata Sarosiek, Radosław Kowalski, Małgorzata Jankun, Zdzisław Zak , Jarosław Król, Stanisław Czerniak, Mirosław Szczepkowski, 2006. Influence of heavy metals and 4-nonylphenol on reproductive function in fish, *Reproductive Biology* Vol. 6, Suppl. 1
- Catherine A. Richter, Linda S. Birnbaum, Francesca Farabollini, Retha R. Newbold, Beverly S. Rubin, Chris E. Talsness, John G. Vandenberg, Debby R. Walser-Kuntz, and Frederick S. vom Saal, 2007. *In Vivo* Effects of Bisphenol A in Laboratory Rodent Studies, *Reprod Toxicol.* 2007 ; 24(2): 199–224
- Jonathan R. Roy, Sanjoy Chakraborty, Tandra R. Chakraborty, 2009. Estrogen-like endocrine disrupting chemicals affecting puberty in humans – a review, *Med Sci Monit*, 2009; 15(6): RA137-145
- Aleksandra Rusin, Zdzisław Krawczyk, Grzegorz Gryniewicz, Agnieszka Gogler, Jadwiga Zawisza-Puchałka² and Wiesław Szeja, 2010. Synthetic derivatives of genistein, their properties and possible applications, Vol. 57, No 1/2010
- <http://www.chemistrydaily.com/chemistry/Diethylstilbestrol>

7. Sažetak

Okolišni modulator signalnih molekula (EDC) definira se kao egzogeni kemijski spoj ili smjesa koja mijenja strukturu ili funkciju endokrinog sustava i uzrokuje različite posljedice na razini organizma, njegovog potomstva i populacija organizama. Spojevi nalik hormonima mogu narušiti endokrine signalne puteve koji igraju bitnu ulogu tijekom perinatalne diferencijacije i rezultirati promjenama koje postaju vidljive tek u kasnijim fazama života. Neki od tih spojeva, kao što su oralni kontraceptivi i cijeli niz pesticida, su specifično razvijeni da ciljaju endokrini sustav, ali velika većina tih spojeva nije bila dizajnirana ni namijenjena tome, pogotovo kod sisavaca. Neki spojevi, kao što je DDT, su sintetizirani za ubijanje komaraca i drugih štetočina koji šire ozbiljne i u nekim slučajevima po život opasne bolesti kao što je malarija. Drugi su razvijeni za usporavanje širenja vatre, za uništavanje korova ili da u neke plastiku čvršćom, čišćom i otpornijom na toplinu (bisfenol A) ili savitljivijom (ftalati). Spojevi nastali u prirodi češće nego ljudskom djelatnošću, kao što su fitoestrogeni, također odgovaraju definiciji. Dokazi povezuju izloženost okolišnim spojevima nalik hormonima sa rastućim brojem zdravstvenih problema.

8. Summary

An endocrine disruptor (EDC) is defined as an exogenous chemical substance or mixture that alters the structure or function of the endocrine system and causes adverse effects at the level of the organism, its progeny, and populations of organisms. Compounds with hormone-like activity can disrupt endocrine signaling pathways that play important roles during perinatal differentiation and result in alterations that are not apparent until later in life. Some of these compounds, such as oral contraceptives and a subset of pesticides, were specifically developed to target the endocrine system but the vast majority of these chemicals were neither designed nor intended to, especially in mammals. Some, such as DDT, were developed to kill mosquitoes and other pests that spread serious and in some cases life threatening human diseases such as malaria. Others were devised as flame retardants, to kill weeds, or to make plastics harder, clearer, and more resistant to heat stress (bisphenol A) or more pliable (the phthalates). Compounds produced in nature rather than by humans, such as the phytoestrogens (genistein), also fit this definition. Evidence implicates developmental exposure to environmental hormone-mimics with a growing list of health problems.